Aus dem Physiologischen Institut der Universität München.
Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. O. Frank.

Lane Medical Library

Über den Einfluß der Monohalogenessigsäure auf die Muskeltätigkeit.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde.

Verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Joseph Knott

Zahnarzt aus Traunstein.

Kallmünz

Buchdruckerei von Michael Laßleben

1933

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München.

Gutachter: Professor Dr. A. Hahn.

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1931.

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154015_0114

Die ganze frühere Auffassung über die Muskelenergetik hat sich durch die neuesten Arbeiten über den Muskelchemismus vollkommen verschoben. Noch vor wenigen Jahren war die klassische Milchsäurehypothese auf Grund der Arbeiten Meyerhofs allgemein anerkannt. (1.) Nach dieser Hypothese war diese Säure die unmittelbare Quelle der Muskelarbeit; und zwar leitete Meyerhof den Kontraktionsablauf des Muskels mit all seinen energetischen Nebenerscheinungen aus der Bildung von Milchsäure aus Kohlehydrat ab. Dabei spielte nach der Ansicht von Fürth stets auch ihre Eigenschaft als Säure (durch Abgabe von H'Jonen) eine ausschlaggebende Rolle. Diesen Ansichten und den auf dieser Hypothese fußenden Anschauungen über Wärmebildung und Atmung des Muskels scheint nun durch die Untersuchungen des dänischen Forschers Einar Lundsgaard an mit Monojodessigsäure vergifteten Muskeln ein vollkommener Wandel beschieden zu sein.

Lundsgaard (14.) stellte eine Reihe von Tiervergiftungsversuchen mit Monojodessigsäure an, indem er in den dorsalen Lymphsack von Fröschen 0,4 mg dieser Säure pro g Körpergewicht injizierte. Etwa 10—60 Minuten nachher wurde die gesamte Muskulatur der Tiere von einem ausgesprochenen Rigor betroffen, der auch nach dem Tode noch anhält. Zu denselben Beobachtungen ist auch schon Pohl (23.) im Jahre 1887 durch Verwendung von Monobromessigsäure gelangt. Lundsgaard fand merkwürdig, daß der Rigor nur eintritt, wenn eine Erregung des Muskels durch den Nerv möglich ist; denn bei kurarisierten Tieren konnte er keine Erscheinungen beobachten, und wenn man die Nerven eines Hinterfußes durchschneidet, schreitet die Rigidität über das ganze Tier fort bis auf das gelähmte Glied. Diese Erscheinungen deuteten schon darauf hin, daß nähere Untersuchung der Monojodessigsäurevergiftung für die Muskelphysiologie von Interesse seien.

Normalerweise ist im Muskel eines getöteten Tieres, wenn es einen Tag bei Zimmertemperatur oder 2 Stunden bei 40° C liegt eine Verschiebung der Reaktion nach der sauren Richtung hin festzustellen. Ganz auffällig war, daß das bei jodessigsäurevergifteten Tieren nicht wahrgenommen werden konnte. Milchsäureanalysen nach Lehnartz ergaben bei Lundsgaard, daß hier keine postmortale Milchsäurebildung eingetreten ist, die bei normalen Tieren die Reaktionsverschiebung bewirkt, was nachstehende Tabelle beweist:

	Normalmuskel	Vergiftete Muskel
frisch	57 mg%	39 mg% Milchsäure
nach 2 Std. bei 40°	649 mg%	27 mg%

Die Muskelkontraktur bei den vergifteten Tieren kann also nicht durch Milchsäurebildung verursacht sein.

Wertvoller noch in seinen Ergebnissen ist folgender Versuch von Lundsgaard: Er will hier den Milchsäurewert eines ruhenden und eines arbeitenden Muskels eines normalen Tieres vergleichen mit den entsprechenden Werten eines mit Monojodessigsäure vergifteten Tieres. Von beiden Tieren wird der Gastrocnemius einer Seite herausgenommen und in flüssige Luft gelegt. Der entsprechende Muskel der anderen Seite beider Tiere wird durch Induktionsstöße auf den N. ischiadicus gereizt, nachdem vorher die Gastrocnemiussehnen mit einem Myographen verbunden wurden. Die Muskel führten nun etwa 100—150 Kontraktionen aus, bis der des vergifteten Tieres in die schon beschriebene Kontraktur verfällt. Hierauf folgten die Milchsäurebestimmungen der Ruhe- und Arbeitsmuskel:

	Normale Muskel			Vergiftete Muskel		
Ruhe	17,9	27,1	40,0	14,9	14,0	25,0 mg% Milchs.
Arbeit	77,1	74,4	100,0	14,4	10,0	16,9

Hiermit war zum erstenmal festgestellt, daß die vergifteten Muskel Arbeit geleistet haben ohne Milchsäure dabei zu erzeugen.

Man könnte nun der Annahme sein, daß die hier bei vergifteten Muskeln beobachteten Kontraktionsvorgänge abnorm seien und den normalen Kontraktionsvorgängen vollkommen wesensfremd seien. Daß dies nicht der Fall ist, beweisen die Beobachtungen von Henriques und Lundsgaard (12.) Diese stellten einen systematischen Vergleich an zwischen normalen und alactaciden Kontraktionen inbezug auf Latenzzeit, Kontraktionszeit, Chronaxie und maximale Spannungsleistung. Isotonische Kontraktionskurven und Elektromyogramme zeigen, daß die obigen vier Punkte völlig wie bei normalen Kontraktionen sind. Die durchaus sekundäre Rolle der Milchsäurebildung während des Kontraktionsprozesses ist hierdurch sicher nachgewiesen.

Man könnte noch den Einwand machen, daß die Aufhebung der Glykolyse unter Umständen nur eine scheinbare wäre. Und zwar hätte 1. eine Oxydation der Milchsäure eintreten können, 2. sie hätte bei der Starre und den dadurch bedingten tiefgreifenden Änderungen der Muskelstruktur in irgend einer Weise umgewandelt oder dem Nachweis entzogen worden sein können und 3. hätte die Glykolyse in den vergifteten Muskeln einen abnormen Verlauf nehmen können: statt Milchsäurebildung, Bildung von Brenztraubensäure oder Methylglyoxal. Um diese Eventualitäten auszuschalten wurden erneute Versuche unternommen (16.) unter streng anaeroben Verhältnissen, um eine etwaige Oxydation der Milchsäure zu vermeiden:

	Milchsäure in %	Milchsäure mg pro g.	
Ruhemuskel	0,008		
Arbeitsmuskel	0,010	0,02	vor der Starre
Arbeitsmuskel	0,013	0,05	nach der Starre
Ruhemuskel	0,008		
Arbeitsmuskel	0,012	0,04	vor der Starre
Arbeitsmuskel	0,011	0,03	nach der Starr

Während in früheren Versuchen mit vergifteten Muskeln eher eine kleine Abnahme des Milchsäuregehaltes gefunden wurde, erhielt Lundsgaard hier eine kleine Vermehrung, die aber in Hinsicht auf die geleistete beträchtliche Arbeit unbedeutend ist. Die Entwicklung der Starre scheint laut Tabelle ohne Bedeutung für die gefundene Milchsäuremenge zu sein. Der Versuch Brenztraubensäure nachzuweisen (mit der Methode von F. Lieben) ist völlig negativ ausgefallen. Dagegen konnte in zwei vergifteten Arbeitsmuskeln Methylglyoxal quantitativ bestimmt werden, einmal 0,02 mg und dann 0,05 mg pro g Muskel. Diese Mengen sind aber so klein, daß sie energetisch kaum in Betracht kommen. Es ist also nicht mehr zu bestreiten, daß monojodessigsäurevergiftete Muskel Kontraktionen ausführen, ohne daß Milchsäure oder eine ähnliche Verbindung mit 3 Kohlenstoffen (Brenztraubensäure, Methylglyoxal) entsteht.

Lundsgaard hat noch den Nachweis erbracht, daß auch ausgeschnittene Muskel in Monojodessigsäure-Ringerlösung vergiftet werden können. (16.) Als die niedrigste sicher wirksame Konzentration fand er 1 : 30 000. Allerdings dauert es eine gewisse Zeit bis die Vergiftung ganz eingetreten ist. Nach Lundsgaards Ansicht handelt es sich hier um eine chemische Zeitreaktion, wobei vielleicht die Jodessigsäure mit dem Fermentsystem in Reaktion tritt. Auch soll die Vergiftung irreversibel sein.

Ernst Fischer konnte nachweisen, daß auch bei isolierten Muskeln durch Ringerlösung mit Monobromessigsäure, die dieselben Eigenschaften besitzt wie die Monojodessigsäure, die Milchsäurebildung bei Muskelzuckung unterdrückt wird. (5.) Er gibt an, eine Konzentration von 1 : 2000 und eine Vergiftungsdauer von 10 Minuten sei noch sicher wirksam. Es scheint also demnach, daß Monobromessigsäure in höherer Konzentration angewendet werden muß, um die gewünschte Wirkung herbeizuführen, als Monojodessigsäure.

Es ist nun die Aufhebung der Milchsäurebildung durch Monohalogenessigsäurevergiftung dargelegt worden.

Im folgenden möchte ich eine Zusammenstellung der bisherigen Beobachtungen über die Einwirkung dieser Säuren auf den Phosphagenzerfall, auf die Wärmebildung, und auf die Atmung des Muskels geben. Über den letzteren Abschnitt habe ich auch selbst eine Reihe von Versuchen ausgeführt.

Phosphagenzerfall.

In den letzten Jahren ist ein mit der Muskeltätigkeit verknüpfter Spaltungsprozeß bekannt geworden, der nicht den Kohlehydratumsatz betrifft und der mit dem Kontraktionsvorgang in fester Beziehung steht. Der fragliche chemische Vorgang ist an das Kreatin gebunden, dessen regelmäßiges Vorkommen in den quergestreiften Muskeln der Wirbeltiere lange bekannt ist. FISKE und SUBBAROW entdeckten 1927, daß das Kreatin des Muskels sich in einer unbeständigen Verbindung mit Phosphat befindet. Die Verbindung zerfällt bei Kontraktion und wird in der Erholung wieder aufgebaut. EGGLETON und EGGLETON (3.) nannten diese Kreatinphosphorsäure „PHOSPHAGEN".

Besonders NACHMANNSOHN (21.) hat sich mit der Frage beschäftigt, ob und inwiefern der Phosphagenzerfall an dem Arbeitsprozeß des Muskels beteiligt ist. Er erkannte, daß er eine wichtige Rolle spielt, weil der molekulare Umsatz im Anfang der Ermüdung und während der oxydativen Restitution größer ist, als der der Milchsäure. Schon EGGLETON stellte fest, daß eine Resynthese gespaltenen Phosphagens bei Gegenwart von Sauerstoff vor sich geht. Wichtiger ist aber noch die Beobachtung NACHMANNSOHNS, daß, wenn nach Muskeltätigkeit Phosphagen gespalten wurde, im unmittelbaren Anschluß an die Erschlaffung auch eine anaerobe Resynthese eintritt. Während dieser anaeroben Resynthese konnte er Milchsäurebildung nicht beobachten. Eine klare Deutung dieser Tatsachen, aus denen man keinen Schluß zu ziehen vermochte, brachten erst die Untersuchungen Lundsgaards mit monojodessigsäurevergifteten Muskeln. In einem Versuch bestimmte er in normalen und vergifteten Ruhe- und Arbeitsmuskeln Phosphagen und Orthophosphat. (14.)

		Milchsäure	Orthophosphat	Phosphagen
Normal	Ruhe	25	21	61
	Arbeit	84	29	46
Vergiftet	Ruhe	16	29	57
	Arbeit	15	28	0

In dem normalen, mit Milchsäureerzeugung arbeitenden Muskel ist demnach nur ein Teil des Phosphagen gespalten, während in dem vergifteten, ohne Milchsäurebildung arbeitenden Muskel das Phosphagen total gespalten ist. Orthophosphat ist nicht daraus entstanden, denn im Versuch (siehe Tabelle) ist keine Mengenänderung desselben wahrzunehmen. EGGLETON und EGGLETON haben gefunden, daß im normalen Muskel 20—40% der aus dem Phosphagen entbundenen Phosphorsäure durch Überführung in Hexosephosphorsäure stabilisiert wäre. Dasselbe hat Lundsgaard auch bei vergifteten Muskeln gefunden, daß nämlich eine bedeutende Ver-

esterung mit Hexose unter Bildung von Hexosephosphorsäure stattfindet, wie nachgewiesen ist.

Nachdem nun, nach aufgehobener Milchsäurebildung außer Phosphagenspaltung keine weiteren beträchtlich anaerob-energieliefernde Reaktionen bekannt sind, war es naheliegend anzunehmen, daß der Phosphagenzerfall als Haupterzeuger der Muskelenergie in Betracht kommt. Die Annahme wurde unter Beweis gestellt, indem der „isometrische Koeffizient des Phosphagenzerfalls" (nach Meyerhof)

$$\frac{\text{Muskellänge} \cdot \text{Summe der Spannung in g}}{\text{g abgespaltene } H_3\ PO_4} = K_{mp}$$

bei milchsäurelosen Kontraktionen konstant bleiben soll, d. h. daß die Phosphagenspaltung hier mit der Spannungsentwicklung ausgesprochen parallel verlaufen soll. Das Ergebnis der Versuche zeigt folgender Auszug aus einer Tabelle Lundsgaards (16.)

	Länge cm	Spannung kg	Gespalt. H_3PO_4 mg abs.	$K_{mp} \cdot 10^6$
Arbeitsmuskel	3,0	25,0	1,36	55
Arbeitsmuskel I	3,2	15,2	0,95	51
Arbeitsmuskel II	3,2	21,1	1,73	54
I	3,2	12,8	0,90	46
II	3,2	25,1	1,60	50
I	3,1	15,7	1,29	38
II	3,1	30,0	1,77	56

Eine Proportionalität ist hieraus allerdings ersichtlich. Wenn auch in dieser Tabelle, die als Beispiel entnommen ist, der Koeffizient ziemlichen Schwankungen unterworfen ist, so haben doch die zahlreichen Versuche Lundsgaards einen recht guten Mittelwert von 51 ergeben, um den herum die meisten Einzelwerte innerhalb der Fehlergrenze sich gruppieren.

Einen weiteren Einblick in die Zusammenhänge des Muskelchemismus brachten die Beobachtungen Lundsgaards über die aerobe und anaerobe Resynthese des Phosphagens bei monojodessigsäurevergifteten Muskeln. Im normalen Muskel findet anaerobe Resynthese statt, im vergifteten nicht, weder nach Reizung, noch in Ruheanaerobiose. Bei Gegenwart von Sauerstoff dagegen konnte Lundsgaard sehr wohl eine Resynthese beobachten. Obwohl die Kohlehydratspaltung aufgehoben ist, wird hier die anscheinend nicht gestörte Oxydationsenergie für die Phosphagenresynthese nutzbar gemacht und hieraus erklärt sich die Tatsache, daß vergiftete Muskel in Sauerstoff beträchtlich mehr Arbeit leisten können, als in Stickstoff; wenn der Stickstoffmuskel bereits erschöpft ist und kein Phosphagen mehr enthält, zeigt der Sauerstoffmuskel beinahe unver-

minderte Spannung und noch etwa $^2/_3$ des ursprünglichen Phosphagengehaltes.

Es wurde daher die Annahme gemacht, daß die Energie für die mechanische Arbeitsleistung vollständig aus der Spaltung der Kreatinphosphorsäure stammt. Lundsgaard stellte die Hypothese auf, daß im normalen Muskel der ursprüngliche Zerfall des Phosphagens im gleichen Umfang erfolgt, wie im vergifteten, aber im ersteren noch während der Kontraktion eine fortlaufende Resynthese auf Kosten der Energie der Milchsäurebildung stattfindet, die im vergifteten Muskel ausbleibt. Dieser Hypothese sind bis jetzt noch keine ernsthaften Gegenmeinungen entgegengetreten.

Wärmebildung.

Eine Hauptstütze der Anschauung, daß Kohlehydratspaltung die für die Zuckung maßgebende Energie liefert, waren die zeitlichen und quantitativen Übereinstimmungen der anaeroben und aeroben Wärmebildung mit dem Auftreten und Verschwinden von Milchsäure im Muskel. Würde die Hypothese stimmen, so müßte bei milchsäurelosen Kontraktionen nun eine starke Änderung der Wärmebildung eintreten.

Man unterscheidet initiale und nachträgliche Wärmebildung, wobei man unter ersterer die, während der Kontraktionsphase anaerob gebildete Wärme versteht; letztere, auch Erholungswärme genannt, tritt nach der Kontraktion auf und entsteht zum kleinen Teil anaerob, zum größeren Teil aber aerob.

Ernst Fischer (5.) untersuchte als erster die Wärmebildung in Muskeln monobromessigsäurevergifteter Frösche. Zunächst bestimmte er den isometrischen kalorischen Quotienten:

$$\frac{\text{Initiale Wärme}}{\text{Spannung} \cdot \text{Muskellänge}}$$

für maximale Einzelreizung für je 5 vergiftete und unvergiftete Frösche. Es trat eine beträchtliche Streuung der Werte auf, aber um so bemerkenswerter war es, daß die Mittelwerte für den kalorischen Quotienten der vergifteten (0,177) und der unvergifteten (0,166) Muskeln beinahe identisch sind. Die Differenz beträgt nur 6,7%. Bestimmte man den Quotienten für Tetani, so ergab sich bei vergifteten Muskeln eine deutliche Erhöhung, um 23,9%. Es ist anzunehmen daß diese Erhöhung auf eine Schädigung des Muskels, und zwar hier die tetanische Reizung und Vergiftung, zurückzuführen ist, was mit der Versteifung und größeren Viskosität des geschädigten Muskels zusammenhängt. Das Anwachsen des Quotienten ist also hier nur scheinbar. Nach einer tetanischen Reizung des Muskels nämlich, ist auch der kalorische Quotient für Einzelzuckung erhöht. Tritt nun, was vorkommt, die Erhöhung nicht sofort nach der tetanischen Reizung ein, sondern erst sehr spät, dann erfährt in diesem Fall auch der Quotient für Tetani keine Steigerung. Man darf daher annehmen, daß der isometrische, kalo-

rische Quotient sowohl für Einzelzuckung, als auch für Tetanus durch die Monobromessigsäure, trotz Fehlens der Milchsäurebildung nicht beeinflußt wird.

Meyerhof, Lundsgaard und Blaschko bestätigten diese Beobachtungen Fischers im vollen Umfang (20.). Letztere Autoren beschäftigen sich nun mit der Frage, wie sich nach dieser Feststellung die Wärmebildung jetzt erklären läßt. Wenn tatsächlich der Phosphagenzerfall als Hauptenergiequelle der Jodessigsäuremuskel und im weiteren Ausbau der Theorie Lundsgaards auch der normalen anzusehen ist, so muß auch die Wärmebildung in diesem Vorgang ihre Ursache haben und ihre Messung kann als Beweis für obige Theorie gelten. Es zeigte sich, daß für Ruheanaerobiose und für schwache Reizung in jodessigsäurevergifteten Muskeln die für eine bestimmte Menge Kreatinphosphorsäure freiwerdende Wärme nicht konstant ist, und zwar schwankt sie pro g abgespaltener Phosphorsäure zwi- 160 und 450 cal. Bei rascher Reizung und vollständiger Erschöpfung des vergifteten Muskels bekam man für dieselbe Menge $H_3 PO_4$ 212 cal Wärmebildung. Daher ist sowohl bei Ruheanaerobiose als bei Reizung mit anschließender Starre nicht alle gebildete Wärme auf bis jetzt bekannte chemische Prozesse zurückzuführen, denn auch die Spaltung der Adenylphosphorsäure genügte zur Erklärung der beobachteten Wärmebildung nicht. Doch glauben Meyerhof und Mitarbeiter annehmen zu können, daß 80% der Kontraktionswärme durch Spaltung des Phosphagens bestritten werden. Wir müssen jedoch bedenken, daß uns die chemischen Vorgänge bei der Muskelkontraktion vielleicht erst zum kleinen Teil bekannt sind, sodaß auch dieser Schluß Meyerhofs durchaus willkürlich ist.

Wenn tatsächlich im normalen Muskel die Milchsäurebildung eine Phosphagenresynthese bewirkt, so läßt sich das nach Fischer (5.) mit den oben angeführten Beobachtungen, daß der isometrische, kalorische Quotient bei nicht milchsäurebildenden und bei normalen Muskeln gleich ist, nur dann vereinbaren, wenn man annimmt, daß die Koppelung zwischen Kohlehydratspaltung und Phosphagenaufbau eine so enge ist, daß dieser Doppelvorgang keine nennenswerte Wärmetönung d. h. Energieverlust aufweist. Dagegen ist zu bemerken, daß es sich hiebei ebensowenig um eine echte gekoppelte Reaktion handeln kann, wie bei der Resynthese von Kohlehydrat aus Milchsäure bei der Erholung. (10. u. 11.)

Was die nachträgliche Wärmebildung anbetrifft, so ist sie nach der Arbeit von Fischer (5.) anders bei Muskeln vergifteter Frösche, als bei isoliert vergifteten Muskeln. Bei ersteren fand er sie stark erhöht, er stellte z. B. einmal das 6 fache der initialen Wärme fest, wogegen im normalen Muskel sie nur wenig größer ist, als die initiale Wärme. Er hatte den Eindruck, daß hier ein gewisser Parallelismus zwischen nachträglicher Wärmebildung und aufgetretener Starrespannung bestehe. Diese Wärmebildung kann also nicht als Erholungswärme angesprochen, sondern steht wahrschein-

lich mit irgend einer chemischen Umsetzung während der Starreentwicklung — Fischer meint, die von Embden nachgewiesene Ammoniakbildung — im Zusammenhang. Jedenfalls kann man nach Lundsgaard (16.) keine der bisher bekannten Phosphatreaktionen mit der Starreentwicklung in Beziehung bringen.

Bei isoliert vergifteten Muskeln fehlt die nachträgliche Wärmebildung in Sauerstoff fast ganz und die aerobe nachträgliche Wärmebildung des vergifteten Muskels ist von der gleichen Größenordnung wie die anaerobe nachträgliche Wärmebildung eines unvergifteten Muskels. Es fehlt also dem vergifteten Muskel die aerobe Erholungswärme.

Aus all diesen Befunden wird gefolgert, daß die Monohalogenessigsäure nur sekundäre Prozesse während der Kontraktionsphase beeinflußt. Die grundlegenden Vorgänge sind dabei wohl dieselben, wie beim unvergifteten Muskel. Die Bildung von Milchsäure gehört nicht zu den Prozessen, die für die Kontraktion unbedingt notwendig sind. Dagegen läßt sich die Erholungsphase von vergiftetem Muskel mit der des intakten wohl garnicht vergleichen. Die Ausbildung der Starre nach der Vergiftung ändert hier die Verhältnisse vollkommen.

Man wird wohl sagen können, daß die Versuche mit Monohalogenessigsäure evident gemacht haben, daß die Milchsäurebildung für die Kontraktion nicht die Voraussetzung ist, eine Tatsache, die Embden (4.) schon früher erschlossen hatte. Für die wirkliche Aufklärung der Vorgänge im Muskel bei Kontraktion und Erholung werden aber die Vergiftungsversuche, wegen der starken Alteration des Muskels, wohl wenig leisten.

Atmung.

Der Spaltungsstoffwechsel wird durch Monohalogenessigsäure, wie die aufgehobene Milchsäurebildung beweist, im tierischen Organismus wesentlich gehemmt. Es war nun von Interesse zu beobachten, ob auch der Oxydationsstoffwechsel durch diese Vergiftung beeinträchtigt wird.

Diese Frage suchte wieder Lundsgaard als erster zu klären, indem er Versuche über den Spaltungs- und Oxydationsstoffwechsel von monojodessigsäurevergifteter Hefe anstellte (15.). Er benützte 10%ige Hefeaufschlämmung mit 5%iger Glukoselösung. Ich nehme folgende anschauliche Tabelle aus der Reihe seiner Versuche:

Zeit nach Zubereitung	Normal		CH_2ICOOH	
	0,1 g Hefe O_2-Verbrauch in 10 Min., cmm	1,5 g Hefe Anaerobe CO_2-Bildung in 10 Min. cmm	0,1 g Hefe O_2-Verbrauch in 10 Min., cmm	1,5 g Hefe Anaerobe CO_2-Bild., in 10 Min., cmm
10 Min.	204	5,5	124	0
30 „	234	7,5	193	0
40 „	234	7,0	227	0
50 „	226	9,2	224	0

Es stellt sich hier heraus, daß die Oxydationsintensität der Hefe trotz der Vergiftung noch dieselbe Höhe hat wie normal, während die Gärung mit Sicherheit als aufgehoben betrachtet werden kann.

Nilsson, Zeile und Euler (22.) konnten diese Ergebnisse durch eigene Versuche bestätigen, dehnten sie aber dahin weiter aus, daß sie Beziehung zwischen Giftkonzentration und Atmungs- und Spaltungsablauf suchten. Sie fanden, daß bei Monojodessigsäurekonzentration von 10^{-4} mol die Atmung noch normal ist und die Gärung aufgehoben wird, aber schon bei wenig größerer Giftmenge ist auch die Atmung deutlich gehemmt.

Auch P. Boysen Jensen (2.) kam mit seinen Versuchen zu demselben Resultat wie Lundsgaard. Er fand, wie auch Lundsgaard, daß mit Monojodessigsäure vergiftete Hefe in atmosphärischer Luft mehr CO_2 entwickelt als anaerob und er konnte experimentell den Verdacht ausschalten, daß die Monojodessigsäure in Gegenwart von Sauerstoff unschädlich gemacht werde.

H. A. Krebs (13.) glaubt, auf Grund seiner Versuche über die Einwirkung der Monojodessigsäure auf den Zellstoffwechsel annehmen zu müssen, daß Zellen nur in Anwesenheit von Milchsäure atmen. Er untersuchte Atmung und Gärung von jodessigsäurevergifteter grauer Hirnsubstanz, Hodengewebe und Rattensarkom manometrisch nach Warburg. Diese Gewebe wurden in einer glukosehaltigen Ringerlösung suspendiert, n/300 Monojodessigsäure zugesetzt und es zeigte sich, daß sowohl Gärung als auch Atmung aufhörten. Setzt man aber der Lösung Laktat zu, so erscheint die Atmung wieder. Diese Tatsache erklärt Krebs folgendermaßen: „In einer ersten anaeroben Phase des Stoffwechsels wird Kohlehydrat zu Milchsäure gespalten, in einer zweiten, aeroben Phase wird die Milchsäure vorwiegend durch Resynthese zu Kohlehydrat wieder zum Verschwinden gebracht. Hemmt man die erste Phase, die anaerobe Milchsäurebildung, so unterbricht man den Kreislauf der Milchsäure und bringt den Stoffwechsel zum Stillstand. Die zweite Phase, die Atmung hört auf. Ersetzt man aber die erste Phase durch künstlichen Zusatz von Laktat, so erscheint die Atmung wieder".

Dieser Theorie liegt die falsche Annahme Meyerhofs über die Natur des Erholungsprozesses im Muskel zugrunde (8.) und ist daher nicht stichhaltig.

Entsprechend dieser Theorie findet Krebs, daß die Jodessigsäurekonzentrationen, die zur Hemmung der Atmung und zur Hemmung der Gärung nötig sind, übereinstimmen. Im gleichen Maße, in dem die anaerobe Milchsäurebildung gehemmt wird, sinkt auch die Atmung. Diese Beobachtungen mit Organaufschwemmung stehen also im Gegensatz zu denen mit Hefe.

Meyerhof und Boyland haben nun den Atmungsvorgang jodessigsäurevergifteter Froschmuskel untersucht (19.). Sie fanden eine Ähnlichkeit des Muskelstoffwechsels mit den eben beschriebenen Befunden von Krebs über Kohlehydratoxydation von Säugetierge-

weben. Als Giftkonzentration nahmen sie 0,25. 10^{-3} n Monojodessigsäure, weil hiebei, wie schon Lundsgaard zeigte, die Milchsäurebildung aufgehoben ist, aber wie sie feststellten die Atmung nicht sehr beeinträchtigt ist.

Die Atemgröße vergifteter Muskel wurde mit der manometrischen Methode von Warburg bestimmt und zwar mit und ohne Zusatz von d-Laktat zur Ringerlösung, weil es interessant war zu beobachten, ob auch hier Laktat die Atmung steigert wie bei normalen Muskeln. Daß das der Fall war zeigt folgende Tabelle:

Vorbehandlung der Sartorien	Versuchsdauer	ohne Lactat	mit d-Lactat
		cmm O_2 pro g und Stunde	cmm O_2 pro g und Stunde
normal	2	24	43
normal	2	33	53
1 Sunde in 0,25 · 10^{-3} Jodessigsäure	2	17	45
	4	13	41

Die Verfasser schlossen hieraus, daß jodessigsäurevergiftete Muskel mit Wahrscheinlichkeit Laktat oxydieren können. Wenn das zutrifft, dann müßten vergiftete Muskel mit Laktatzusatz einen höheren respiratorischen Quotienten $CO_2 : O_2$ aufweisen, als solche ohne Laktat. Das glauben die Verfasser beweisen zu können mit einer Reihe von Versuchen von denen ich hier einen Tabellenauszug bringe. Es ist hier auch die Atmung von vergifteten intakten und zerschnittenen Muskeln zu sehen.

Behandlung der Sartorien	Suspensionslösung	Temp.	Zeit in Std.	cmm O_2 pro g und Stunde	Respiratorischer Quotient
Jodessigsäuremuskel **intakt**	ohne Lactat	15°	6	10,8	0,68
	"	15	5	9,0	0,80
	"	20	4	49,3	0,82
	mit Lactat n/50	15	5	15,6	0,96
	"	15	4½	30,0	0,91
Jodessigsäuremuskel **zerschnitten**	Ringer ohne Lactat	15	4	8,4	0,68
	0,9% KCl "	15	4	13,9	0,86
	n/10 Phosphat "	15	4	55,9	0,67
	" "	15	4	13,3	0,71
	" "	15	4	84,0	0,85
	Ringer mit Lact. n/200	15	4	23,1	0,95
	0,9% KCl " "	15	4	42,5	0,97
	n/10 Phos. " "	15	4	161,0	0,80
	" " "	15	4	37,7	0,90

Der respiratorische Quotient ist bei Muskeln ohne Laktatzusatz, laut obiger Tabelle, ziemlich niedrig, scheint aber bei Anwesenheit von Laktat anzusteigen, woraus anzunehmen wäre, daß das zugefügte Laktat verbrennt. Zur Kritik dieser Versuche ist allerdings zu bedenken, daß die Bestimmung des respiratorischen Quotienten mit Barcroftmanometern außerordentlich ungenau ist und daß die geringe Steigerung (2 Versuche!) wohl sicher innerhalb der Fehlergrenze der Methode fällt.

Die Verfasser glauben, daß nicht die Milchsäureverbrennung allein für die Atmung verantwortlich gemacht werden kann, weil vergiftete Muskel auch in Phosphatpuffer besser atmen und auch nach alaktaciden Kontraktionen in der Erholung eine beträchtliche Atemsteigerung eintritt.

Die Durchsicht der von Meyerhof und Boyland angegebenen Versuche macht es wahrscheinlich, daß die Atemsteigerung vergifteter Muskel nach Zusatz von Milchsäure wohl auf eine Oxydation derselben zurückzuführen ist. Einen wirklichen Beweis hierfür stellen aber die wenigen, außerdem noch schlecht übereinstimmenden Versuche zur Bestimmung des respiratorischen Quotienten nicht dar.

Wie beim normalen Muskel trat auch beim vergifteten nach Zerschneiden eine Atemsteigerung auf, die nicht auf Milchsäurebildung zurückgeführt werden kann. Und daraus schließt Meyerhof, daß auch die starke Atemsteigerung, die man beim Zerschneiden unvergifteter Muskel beobachtet, nur zum Teil in der Milchsäurebildung ihre Ursache hat.

Aus den vorhergehenden Versuchen scheint soviel mit Sicherheit hervorzugehen, daß die Monohalogenessigsäure die anaerobe Spaltung in der Zelle stärker hemmt, als den oxydativen Abbau.

Zu dieser Frage habe ich noch einige Versuche angestellt, über die ich im Folgenden berichten werde.

Methodik.

Zu den Atmungsversuchen benutzte ich Barcroft-Manometer mit Nelkenöl als Sperrflüssigkeit. An diese wurden Manometergefäße nach Meyerhof (17.) angeschlossen, die mit zu untersuchendem Muskel beschickt werden konnten. In dieses Gefäß ist ein Röhrchen eingeschmolzen, das zur Absorption von CO_2 mit 0,2 ccm 30%iger Kalilauge gefüllt wurde. Während des Versuchs tauchten diese Manometergefäße in einen Wasserthermostaten, dessen Temperatur immer $2—3^0$ über Zimmertemperatur war und durch Benutzung eines Thermobarometers korrigiert und genau konstant gehalten werden konnte. Die Schüttelung der Gefäße erfolgte nach der Methode von Siebeck (24.).

Der O_2-Verbrauch des Muskels wurde berechnet nach der Formel:

$$\Delta v = \frac{273 \cdot \Delta p}{T \cdot \Omega}$$

wenn Δ v = verbrauchtes Vol. O_2 bei O^0 und 1^{at}
Δ p = Druckabnahme in mm Nelkenöl
Ω = Druck von 1^{at} in mm Nelkenöl (9702)
T = absolute Temperatur
v = ursprüngliches Vol. (Gefäßvolumen + Vol. des Manometerrohres bis Beginn der Füllung, unter Abzug der Zutaten (Muskel, Puffer u.s.w.)

In einem Teil der Atmungsversuche benutzte ich 3—4 intakte Sartorien, in einem andern ebensoviel sorgfältig längsgeschnittene. Jeweils wurden die Muskel der einen Seite für den Versuch, die der anderen Seite für den Kontrollversuch benutzt. Die Muskel lagen in einer isotonischen Ringerlösung nach Angabe von A. Hahn, Belmonte und Niemer(6.).

Meyerhof fand, daß Laktatzusatz bei Muskeln, die durch Vergiftung die Fähigkeit verloren haben Milchsäure zu bilden, die Atmung anregt.(19.) Es war nun interessant festzustellen, ob das auch ein anderer Stoff, etwa Bernsteinsäure vermag. Zu diesem Zweck untersuchte ich vorerst die Atmungsgröße unvergifteter, intakter Sartorien bei Zusatz von 1%iger Lösung von bernsteinsäurem Na zur Ringerlösung im Verhältnis 1 : 1. Die Versuche dauerten durchschnittlich $1^1/_2$—$2^1/_2$ Stunden. Die Temperatur im Thermostaten war 21—22° C. Vor jedem Versuch wurde durch das Manometergefäß, unter Schütteln im Thermostaten, 15 Min. lang Sauerstoff in mäßig raschem Strom durchgeleitet.

Tabelle 1.

Versuchs-Nr.	O_2 — Verbrauch in cmm von Sartorien in Ringerlösung, intakt.	
	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure
1.	73,5	82,0
2.	93,0	105,0
3.	168,0	181,0
4.	79,5	128,0

Aus dieser Versuchsreihe ist eine relativ geringe Atmungssteigerung des intakten, unvergifteten Muskels durch Bernsteinsäure, um durchschnittlich 25,5%, festzustellen.

Die nächsten Versuche unternahm ich mit längsgeschnittenen Muskeln, weil hier anzunehmen war, daß die Bernsteinsäure bedeutend leichter in den Muskel eindringen kann, gleichzeitig aber der Muskel nicht sehr stark geschädigt ist, weil nur wenige Fibrillen bei vorsichtiger Zerschneidung getroffen werden. Wie A. Hahn, Belmonte und Niemer gezeigt haben(6.), ist bei derart behandelten

Muskeln nicht einmal die Kohlehydratresynthese gehemmt, bei quergeschnittenen jedoch sehr stark.

Tabelle 2.

Versuchs-Nr.	O_2-Verbrauch von Sartorien in Ringerlösung, zerschnitten längs, cmm	
	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure
5.	102	174
6.	195	222,5
7.	111	187
8.	188	220
9.	131	172

Wie zu erwarten war (Tab. 2) hat die Bernsteinsäure die Atmung in längsgeschnittenen Muskeln mehr angeregt, als in intakten und zwar im Durchschnitt um 40,2%.

Tabelle 3. zeigt nun die Einwirkung der Bernsteinsäure auf die Atmung von Muskeln, die mit Monobromessigsäure vergiftet waren. Die Sartorien wurden zuerst längsgeschnitten und dann 25 Minuten in Ringerlösung mit 0,01% neutralisierter Bromessigsäure gelegt. Auch während der Atmung waren die Muskel in derselben Lösung suspendiert.

Tabelle 3.

Versuchs-Nr.	Sartor. vergiftet mit $CH_2BrCOOH$ 0,01% längsgeschnitten, O_2-Verbrauch in cmm	
	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure
10.	127	179
11.	88	122
12.	130	154
13.	124	170

Trotz der Vergiftung zeigen die Muskel hier eine nur wenig verminderte Atmungsgröße, wenn man sie mit den Werten von Tabelle II vergleicht, obgleich die Milchsäurebildung völlig aufgehoben ist, wie auch schon Meyerhof nachgewiesen hat. Die Atmungsanregung durch Bernsteinsäure ist beträchtlich — im Durchschnitt 33,8% — aber nicht mehr so stark wie bei unvergifteten Muskeln.

In der Folge unternahm ich Versuche mit Rindsmuskelbrei, weil dieser nach A. Hahn, Fischbach und Niemer (7.) viel besser atmet als Kaltblütlermuskel und hier auch in besonderem Maße die Dehydrierung von zugesetzten Substanzen möglich ist. Der Muskel wurde ausgewaschen, weil dann die Atmungsanregung durch gewisse zugesetzte Substanzen besonders deutlich wird. Die Auswaschung erfolgte so, daß der vorher mit der Fleischmaschine zerkleinerte

Muskel dreimal mit etwa der 20fachen Menge Wasser je 15 Minuten geschüttelt wurde. Dann wurde die Muskulatur in einem Tuch ausgepreßt. Derartig vorbehandelter Muskel atmet beinahe gar nicht mehr(8.), wie auch aus Tabelle 5. hervorgeht. Zusatz von Bernsteinsäure jedoch steigert die Atmung mächtig. Diese Säure wird hierbei über Äpfelsäure und Brenztraubensäure dehydriert(9.).

Es war nun interessant zu beobachten, wie diese starke Steigerung des O_2—Verbrauchs durch gleichzeitige Monobromessigsäurevergiftung beeinflußt wird. E. Fischbach hat in einigen Versuchen im hiesigen Physiologischen Institut gezeigt, daß bei derart vergifteter Rindsmuskulatur keine Milchsäurebildung mehr vorhanden ist (Tab. 4.). Der Muskel befand sich vor dem Versuch 20 Min. in Lösung von 0,01% Bromessigsäure.

Tabelle 4.

Milchsäurebestimmung nach Bromessigsäurevergiftung.

	Milchsäure in mg	
	direkt	in Vakuum
Rindsmuskelbrei, vergiftet,	10,82	10,18
	8,3	8,1
1½ Std. geschüttt.	9,9	8,9

Bei normalen Muskeln findet im Vakuum eine äußerst starke Milchsäurebildung statt(7.), bei vergifteten, wie aus Tabelle 4 ersichtlich, aber nicht die geringste Zunahme der Milchsäure.

Zu den Atmungsversuchen nahm ich je 0,5 g Muskel, 0,5 ccm Phosphatpuffer von $p = 7{,}38$, der bei einer Versuchsreihe 0,2 mg neutralisierte Bromessigsäure enthielt, und dann entweder 1,5 ccm H_2O oder dieselbe Menge einer 1%igen Lösung von bernsteinsaurem Na. Die Bromessigsäurekonzentration betrug demnach in einem derartigen Gemisch von 2 ccm 0,01%.

Tabelle 5.

Versuchs-Nr.	O_2-Verbrauch von ausgewaschenen Rindsmuskelbrei in Phosphatpuffer		
	ohne Zusatz	mit Bernsteinsäure	mit Bernsteins. u. Bromessigsäure
14.	18,2	—	—
15.	10,0	—	—
16.	18,0	—	—
17.	13,7	—	—
18.	14,7	270	159
19.	—	156	83
20	—	147	74
21.	—	222	148
22.	—	241	143

Ausgewachsener Muskel atmet also sehr gering, Zusatz von Bernsteinsäure schafft eine große Anregung. Diese Anregung der Atmung wird aber durch gleichzeitige Vergiftung gehemmt, im Durchschntit um 42,3%. Man kann der Meinung sein, daß diese Hemmung auf fehlender Milchsäurebildung beruht. Jedenfalls ist gezeigt worden, daß nicht nur Laktatzusatz die Muskelatmung steigert, sondern auch Zusatz von Bernsteinsäure, und daß diese Steigerung durch Monobromessigsäure wohl gehemmt wird, aber nicht in allzu großem Ausmaß.

Abschließend läßt sich bemerken, daß die Atmung des Muskels durch Monohalogenessigsäure nur geringfügig beeinflußt wird, im Gegensatz zur Milchsäurebildung.

Es besteht kein Zweifel, daß durch die Untersuchungen Lundsgaards mit Monojodessigsäure eine neue Epoche in der Muskelphysiologie angebahnt wurde. Manch alte Erkenntnisse hat man modifizieren müssen. Ein Abschluß der Forschungen ist jedoch zur Zeit noch nicht erreicht.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Professor Dr. Amandus Hahn für die Themastellung und für die liebenswürdige Bereitwilligkeit zu wertvollen Ratschlägen herzlichst zu danken. Nicht minder zu Dank verpflichtet fühle ich mich Herrn Dr. Fischbach für die freundliche Anleitung und fördernde Beihilfe zu den Versuchen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Bethe, Naturwissensch. 18, 678, 1930.
2. Boysen Jensen, P. Biochem. Zeitschr. 236, 211, 1931.
3. Eggleton u. Eggleton, Journal of Physiol. 65, 15, 1928.
4. Embden, Riebeling, Selter, Hoppe-Seylers Z. 179, 149, 1928.
5. Fischer, E. Pflüger's Archiv 226, 500, 1931.
6. Hahn, A., Belmonte u. Niemer, Z. f. Biol. 91, 492, 1931.
7. Hahn, A. Fischbach u. Niemer, Z.f. Biol. 91, 53, 1930.
8. Hahn, A., u. Fischbach, Z. f. Biol. 89, 152, 1929.
9. Hahn, A. u. Haarmann, Z. f. Biol. 89, 563, 1930.
10. Hahn, A. Z. f. Biol. 91, 445, 1930.
11. Hahn, A. Z. f. Biol. 92, 317, 1931.
12. Henriques u. Lundsgaard, Bioch. Z. 236, 219, 1931.
13. Krebs, A. Bioch. Z. 234, 278, 1931.
14. Lundsgaard, E. Bioch. Z. 217, 162, 1929.
15. Lundsgaard, E. Bioch. Z. 220, 8, 1930.
16. Lundsgaard, E. Bioch. Z. 227, 51, 1930.
17. Meyerhof, Plüger's Arch. 164, 410, 1916.
18. Meyerhof, Naturw. 17, 283, 1929.
19. Meyerhof u. Boyland, Bioch. Z. 237, 1931.
20. Meyerhof, Lundsgaard u. Blaschko, Bioch. Z. 234, 278, 1931.
21. Nachmannsohn, Bioch. Z. 196, 73, 1928 und 208, 239, 1929.
22. Nilsson, Zeile u. Euler, Z. f. physiol. Chemie 194, 53, 1931.
23. Pohl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 24, 149, 1887.
24. Siebeck, Bioch. Arbeitsmethoden 8, 34, 1915.

Lebenslauf.

Ich, Joseph Knott, wurde am 6. I. 1909 zu Traunstein geboren. In Traunstein besuchte ich die Realschule, später die Oberrealschule in Rosenheim und erwarb dort das Reifezeugnis.

Im Mai 1928 bezog ich die Universität München und legte dort im W.S. 1929/30 die zahnärztliche Vorprüfung ab und im Herbst 1931 das zahnärztliche Staatsexamen. Die Approbation als Zahnarzt erhielt ich am 23. Dez. 1931.